

Estudio sobre portadores sanos de streptococos beta hemolíticos del grupo "A"

**EVALUACION DE DOS MEDIOS
DE CULTIVO PARA SU AISLAMIENTO**

Lic. Melania Piña de Carruyo

AGRADECIMIENTO:

Mi agradecimiento al personal estudiado que hizo posible la realización de este trabajo.

Al personal docente del Grupo escolar Andrés Eloy Blanco, por su colaboración durante la realización de este estudio.

A la Sra. Yolanda Izarra P. por su cooperación en la transcripción mecanográfica.

A la Sra. Hortensia Martínez por su valiosa ayuda en la preparación del material utilizado en el estudio.

CONTENIDO:

PORTADA	113
VEREDICTO	
AGRADECIMIENTO.....	113
CONTENIDO	114
LISTA DE ILUSTRACIONES.....	114
SIMBOLOS Y ABREVIATURAS	115
INTRODUCCION	116
MATERIALES Y METODOS.....	120
RESULTADOS.....	124
DISCUSION	137
RESUMEN	140
REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS.....	141

LISTA DE ILUSTRACIONES:

Tabla N° 1: Población adulta. Distribución por sexo.

Tabla N° 2: Población escolar. Distribución por sexo y grupos etarios.

Tabla N° 3: Población adulta. Distribución por departamentos.

Tabla N° 4: Streptococos beta hemolíticos aislados en la población adulta.

Tabla N° 5: Población adulta. Resultado del estudio serológico practicado a las 25 cepas de Streptocos beta hemolíticos positivas a la prueba presuntiva de la Bacitracina.

Tabla N° 6: Distribución de los diferentes grupos serológicos de los Streptococos beta hemolíticos encontrados en la población adulta.

Tabla N° 7: Población adulta. Distribución de portadores sanos de Streptococos del Grupo A.

Tabla N° 8: Distribución de los diferentes grupos serológicos en las dependencias Hospitalarias.

Tabla N° 9: Estudio comparativo de los medios de Agar Sangre de Carnero y Agar Sangre de Carnero con Acido Nalidixico empleados en el aislamiento de Streptococos beta hemolíticos del Grupo A en la población adulta.

Tabla N° 10: Aislamiento del Streptococo beta hemolítico.

Tabla N° 11: Investigación del Grupo A por medio del taxo de Bacitracina y serología de las cepas de Streptococos beta hemolíticos. Población escolar.

Tabla N° 12: Distribución de los diferentes grupos serológicos en la población escolar.

Tabla N° 13: Aislamiento de los Streptococos beta hemolíticos obtenidos de los diferentes medios de cultivo.

SIMBOLOS Y ABREVIATURAS:

A.S.C.	Agar Sangre de Carnero
A.S.C.C.V.	Agar Sangre de Carnero con Cristal Violeta
A.S.C.A.N.	Agar Sangre de Carnero con Acido Nalidixico
B.B.L.	Laboratorios Biológicos de Baltimore
ml.	mililitro
grs.	gramos
mm.	milímetros

cm.	centímetros
lb.	libras
C.V.	Cristal Violeta
Nº	Número
U.T.	Unidades Todd
Col.	Colaboradores

INTRODUCCION:

Los Streptococos beta hemolíticos del Grupo A, han sido implicados en una variedad de enfermedades infecciosas que en muchas ocasiones cursan con cuadros bastantes severos que ponen en peligro la vida de los enfermos ¹⁻⁸.

Las manifestaciones clínicas de las infecciones streptocócicas, están en relación directa con la puerta de entrada y el estado de inmunidad del huésped. Con algunas excepciones, para una determinada entidad clínica, las personas de cualquier edad, raza o sexo, en términos generales, son igualmente susceptibles para la adquisición de estas enfermedades ².

En la era preantibiótica, las infecciones causadas por el Streptococo pyogenes ocupaban un lugar predominante como causa de morbilidad y mortalidad en el humano. En la Literatura Científica de comienzos del siglo XX aparecen citados casos de grandes epidemias producidas por estos microorganismos, entre estas se recuerda la de fiebre puerperal, ocurrida en los hospitales la cual presentaba una tasa de mortalidad bastante elevada ⁹.

El descubrimiento por Fleming en el año 1928 de la Penicilina, la purificación de este antibiótico por Florey, Chain y col. en el año 1938, y el empleo posterior de este agente antimicrobiano para el tratamiento de las enfermedades infecciosas en el

hombre, modifican sustancialmente las estadísticas existentes hasta esa época con relación a las infecciones streptocócicas al convertirse la Penicilina en un arma poderosa para combatir las infecciones por Streptococos del Grupo A. desde entonces, numerosos han sido los trabajos realizados para demostrar la susceptibilidad o resistencia de estas bacterias a ese agente antimicrobiano, no existiendo evidencias de que hayan surgido hasta los actuales momentos cepas resistentes a esta droga ¹⁰⁻¹⁵ lo cual permite seguir considerando la Penicilina como el antibiótico de elección en el tratamiento de las infecciones por Streptococo beta hemolítico del Grupo A.

Un tratamiento adecuado con Penicilina, elimina los Streptococos del Grupo A de los sitios de infección impidiendo complicaciones que pudieran conducir a diversos procesos patológicos.

El paciente no tratado, o el tratamiento inadecuado de las infecciones streptocócicas, pueden conducir a la aparición de complicaciones que pueden ser inmediatas o tardías. Las mas frecuentes son estas últimas, que ocurren después de un período variable de latencia que oscila generalmente entre 10 a 20 días desde el inicio de la enfermedad. Dentro de ellas destacan por su importancia médica la fiebre reumática y la glomerulonefritis aguda ¹⁶⁻²².

La fiebre reumática es una enfermedad no supurativa, considerada ya desde el año 1937 por Brokman y col. como una enfermedad autoinmune ²³. Sigue por lo general a una faringitis causada por cualquiera de los 60 tipos serológicos de Streptococos que pertenecen al Grupo A ^{8,24-27}. Es rara en niños menores de tres años, mas común en edades comprendidas entre 5 a 14 años. En los adultos la incidencia es menor, sin embargo, se han reportado estudios en donde la incidencia en adultos es mayor que en los niños ²⁸. La susceptibilidad del huésped juega papel importante en la aparición de esta enfermedad ^{2,23}.

Varios estudios han sido efectuados para determinar la patogénesis de la fiebre reumática ^{23,29}. Con los trabajos de Kaplan y col. ^{30,31}, se demostró la existencia de un antígeno en la pared celular de los Streptococos del Grupo A que reacciona en

forma cruzada con el tejido miocárdico humano. Zabriskie y Freimer ³² describen un antígeno común que reacciona en forma cruzada con el sarcolema cardíaco. Goldstein y col. ³³ muestran que el polisacárido Grupo específico de los Streptococos del Grupo A, da una reacción cruzada con glicoproteínas de las válvulas del corazón.

La existencia de reacciones cruzadas entre antígenos del corazón humano y los Streptococos del Grupo A pudieran explicar como esta bacteria puede causar la fiebre reumática ²³.

Innumerables trabajos han sido publicados en los últimos años en diferentes partes del mundo sobre fiebre reumática ^{16,27,28} habiéndose demostrado que esta enfermedad es susceptible de prevenirse y su incidencia mucho mayor de lo que se cree generalmente. En algunos países es tal la magnitud que se le tiene como un problema de Salud Pública.

En los Estados Unidos de Norteamérica, se reportan aproximadamente 4.000 casos nuevos de fiebre reumática por año, con un número considerablemente elevado de muertes por esa causa ³⁴.

Revisiones hechas de esta afección por García O.F. y col. ²⁸ en la ciudad de Maracaibo, la cual está situada prácticamente a nivel del mar, con una temperatura media de 30°C, en el Servicio de Cardiología del Hospital Universitario durante los años 1961 a 1970, revelan que el número de casos encontrados eran mucho mayor de lo que ellos esperaban.

Igualmente los trabajos realizados por Boscan L. ³⁵ en el Servicio de Cardiología del hoy Hospital General del Sur desde 1958 a 1964 coloca la fiebre reumática como la tercera entidad en frecuencia causante de cardiopatía adquirida en nuestro medio.

La glomerulonefritis aguda también ha sido motivo de preocupación y estudio por un grupo de científicos en nuestra región. Es otra de las complicaciones tardías que aparecen principalmente después de infecciones en piel o garganta causadas por el Streptococo beta hemolítico del Grupo A ^{21,22,36,37}.

Solo un número limitado de estos Streptococos, los pertenecientes según la clasificación serológica de Lancenfiel y Griffith de la proteína M a los tipos 1,2,4,6,12,25,49,52,55,56,57,58 y 60, poseen propiedades nefritogénicas³⁸⁻⁴¹ y por lo tanto capacidad de producir glomerulonefritis aguda.

Los mecanismos que conducen a la aparición de la glomerulonefritis aguda post-streptocócica no son aún bien conocidos, existiendo actualmente varias hipótesis que tratan de explicar las causas por las cuales esos serotipos llamados nefritogénicos pueden causar daño al riñón^{19,42-44}.

Entre las varias teorías propuestas, una de las que ha tenido mayor aceptación es que la formación de un complejo antígeno-anticuerpo unido al complemento se deposita sobre la membrana basal del glomérulo, produciendo lesiones características en ella⁴⁵. Varios experimentos se han realizado para demostrar esta y las otras teorías existentes, las cuales ponen en evidencia un mecanismo inmunológico en la patogenicidad de la glomerulonefritis aguda post-streptocócica^{44,45}.

Rodríguez Iturbe y García Ramírez⁴⁶, estudian durante el periodo comprendido de Enero de 1967 a Diciembre de 1968, en el Servicio de Nefrología del Hospital Universitario de Maracaibo 470 casos de glomerulonefritis aguda los cuales mostraron títulos elevados de antiestreptolisinas en un gran porcentaje de ellos.

Rubio L. y col.⁴⁷, analizan 855 casos de glomerulonefritis aguda en el Hospital Universitario de Maracaibo en periodos comprendidos de 1965 a 1971 con aumento del título de antiestreptolisina 0 en 47.3 y 59% de los casos sin y con antecedentes de infección.

Los datos epidemiológicos reportados en nuestro medio relacionados a estas enfermedades post-streptocócicas, nos hacen sospechar la existencia en la comunidad de un alto índice de personas infectadas con Streptococos pyogenes.

Consideramos por lo tanto de gran interés, el estudio de los portadores sanos en nuestra población, con el propósito de determinar su índice y establecer las normas de control que fuesen necesarias.

El trabajo es diseñado en un ambiente hospitalario, no porque la entidad estudiada representa en la actualidad un problema en las Infecciones Nosocomiales, sino por la facilidad para obtener muestras representativas de todos los estratos socio económicos, así como también para trabajar con un personal que estuviese siempre a nuestro alcance.

En este estudio fueron incluidas también, muestras representativas de niños normales en edad escolar, para establecer el número de portadores en este grupo etario.

Se establecen en esta población estudiada los porcentajes de los diferentes grupos serológicos de Streptococos beta hemolíticos.

Se determinan los títulos de antiestreptolisina O y la sensibilidad de las cepas aisladas pertenecientes al Grupo A para los diferentes agentes antimicrobianos.

Se evalúan además dos medios de cultivo selectivos para determinar cual de estos medios resulta mas favorable para el aislamiento de los Streptococos del Grupo A, aún en los casos en donde su número es escaso como se dice ocurre generalmente en los portadores sanos y fundamentalmente se evalúa la Eritromicina para el tratamiento del estado de portador sano.

MATERIALES Y METODOS:

Un total de 672 muestras de exudados faríngeos provenientes de una población normal, fueron procesados para investigar Streptococos beta hemolíticos del Grupo A.

De ellas, 572 fueron tomadas entre el personal adulto que trabaja en el Hospital Universitario de la ciudad de Maracaibo, las 100 restantes, en niños de edades comprendidas entre 6 y 16 años en una concentración escolar situada al Norte de la ciudad.

La selección del personal hospitalario fue realizada entre aquellas personas que tuviesen un contacto mas directo con los pacientes hospitalizados y también que pertenecieran a diferentes

dependencias, tales como: Cuidados Intensivos, Quirófanos, Salas de Maternidad, Salas de Retén, Salas de Cirugía, Laboratorio, Servicios de Medicina Interna, Consulta Externa, personal Administrativo y personal de Cocina y Limpieza.

Antes de tomar las muestras, el personal era interrogado para evidenciar si en los tres meses anteriores, había padecido infecciones en piel o garganta que pudieran hacer pensar en el Streptococo del Grupo A como agente causal de esas infecciones, descartándose a aquellos que acusaban esos padecimientos y de esta manera trabajar con un personal que se pudiese calificar como sano.

De estas muestras, 30 fueron tomadas por duplicado para establecer si existían diferencias significativas en cuanto al número de colonias presentes en los medios de cultivo.

Para la toma de los exudados en la orofaringe, se siguió estrictamente la siguiente técnica: con el hisopo se frota enérgicamente la región amigdalina y la pared posterior de la faringe, evitando tocar la lengua y la cara interna de los carrillos para evitar en lo posible la contaminación con microorganismos que pudieran enmascarar el Streptococo pyogenes, y por tanto disminuir el número positivo de portadores sanos.

Con la finalidad de asegurar la viabilidad y aislamiento del Streptococo beta hemolítico del Grupo A, los hisopos fueron colocados de inmediato en tubos estériles que contenían 0.5 ml. de caldo Todd Hewit en donde permanecían hasta el momento de la siembra, aproximadamente de 10 a 20 minutos, período de tiempo que no altera la flora presente por los efectos del metabolismo bacteriano.

Cada uno de los hisopos fueron sembrados en tres diferentes medios de cultivo para verificar en cual de ellos se obtiene el mejor índice de aislamiento de estos microorganismos. Ellos fueron:

- a) Agar con Sangre de Carnero desfibrinada (A.S.C.), completamente libre de carbohidratos ya que pequeñas cantidades de estos pueden inhibir la producción de streptolisina S. La base

de la preparación de este medio fue la siguiente: Trypticasa Soya Agar (B.B.L.) 40 gr. que fueron disueltos en 1000 ml. de agua destilada. Esterilizar en autoclave por 15 minutos a 15 lb. de presión y a temperatura de 121°C. Estabilizar el medio en baño de maría a 50°C, agregar la sangre desfibrinada de carnero al 6% y repartir en placas. Se recomienda no utilizar las placas de ninguno de los tres medios que aquí se mencionan que tengan más de una semana de preparadas.

- b) En la preparación del Agar Sangre de Carnero con Cristal Violeta (A.S.C.C.V.), se sigue el mismo procedimiento que para A.S.C., pero se le agrega Cristal Violeta para obtener una concentración de 1:500.000.
- c) Agar Sangre de Carnero con Acido Nalidixico (A.S.C.A.N.). Este medio fue preparado según fórmula de sus autores: H.B. Beereens et M^{me} M.M. Tahon Castel ⁴⁸ con una pequeña variante: Extracto de carne 3 grs., Tryptosa de Difco 10 grs., Cloruro de sodio 5 grs., Acido Nalidixico 0.04 grs., agar en polvo 15 grs., agua destilada 1000 ml. Después de autoclavar el medio, agregar 75 ml. de Sangre de Carnero.

La variante consistió en el uso de agar sangre de carnero en vez de la de caballo como aparece en la fórmula original, por la ventaja que ofrece la primera al inhibir el crecimiento de *Haemophilus haemoliticus* ^{27,49,50}, habitante normal de faringe, cuyas colonias son muy semejantes a las del *Streptococo* del Grupo A, y también por ser más fácil la obtención de esta sangre en nuestro laboratorio.

El espesor de los medios de cultivo fue aproximadamente de 6 mm. con la finalidad de poder visualizar mejor los diferentes tipos de hemólisis descritos por Brown para este Género de microorganismos.

La siembra fue realizada sobre la superficie del medio de cultivo, pasando directamente el hisopo y rotándolo en la parte media de la placa desde la parte superior hasta la inferior, y luego con el asa de platino dispersando el material en líneas en zig zag comenzando por el extremo superior izquierdo de la placa hasta el

extremo inferior de ella a fin de obtener colonias bien aisladas que facilitarían la identificación posterior de las bacterias.

Las placas fueron incubadas a temperatura de 37°C durante 18 a 24 horas en ambiente de anaerobiosis para detectar la acción hemolítica de las cepas productoras de estreptolisina O, la cual es lábil al oxígeno ⁵¹.

Después de la incubación, las colonias pequeñas, circulares traslucidas con una zona de hemólisis Beta a su alrededor y que crecieron en los diferentes medios sembrados, fueron cuantificadas y procesadas luego para su identificación.

Como carácter importante para la identificación de los Streptococos del Grupo A, se tomó la producción de hemólisis beta y también fueron estudiados grupos representativos de colonias carentes de hemólisis las cuales han sido descritas por algunos investigadores como pertenecientes al grupo A ²⁶.

Luego de esta primera observación y del procesamiento de las colonias, las placas eran colocadas a temperatura de refrigeración para detectar la doble zona de hemólisis producida por ciertas cepas de los Grupos A, B, C y G ⁵².

Varias de las colonias con las características antes señaladas fueron repicadas a placas de A.S.C. para la identificación presuntiva del grupo serológico A, siguiendo el método propuesto por Maxted en 1953 para la diferenciación de los Streptococos Grupo A, de otros Streptococos beta hemolíticos por medio del taxo de Bacitracina.

El usado en este trabajo es de los Laboratorios Biológicos de Baltimore (B.B.L.), con una concentración de 0.02 U. de Bacitracina.

Las colonias de las cepas a probar eran extendidas uniformemente en un área aproximada de 2 a 3 cm. sobre el medio de cultivo colocando el taxo en la parte central de esta área. Las placas se incubaron nuevamente a 37°C durante 18 a 24 horas en atmósfera de anaerobiósis. Después de la incubación fueron examinadas para determinar la zona de inhibición que a su vez fue medida en mm.

A todas las colonias que presentaron beta hemolisis se les practicó la extracción del carbohidrato C. El método empleado para esta extracción fue el de Rantz y Randall ⁵³ que utiliza el calor para la extracción de esa porción antigénica. Con el antígeno obtenido se realizan pruebas de precipitación en tubos capilares propuesta por Lancenfield para la identificación de los diferentes grupos serológicos. Para ello se utilizaron antisueros comerciales de B.B.L.

Las cepas confirmadas por serología como pertenecientes al Grupo A, se les practicó el test de susceptibilidad a los agentes antimicrobianos siguiendo el método del disco único de alta potencia establecido por A.W. Bauer ⁵⁴. En esta prueba fueron utilizadas placas de Mueller Hinton con sangre. Los siguientes agentes antimicrobianos fueron estudiados: Penicilina, disco con una concentración de 10 Unidades (Difco), Eritromicina, disco con concentración de 15 mcg. (B.B.L.) y Lincomicina, disco con concentración de 2 mcg. (B.B.L.).

A los portadores positivos se les extrajo sangre para la titulación en el suero de la antiestreptolisina O según la técnica de los Laboratorios Biológicos de Baltimore (B.B.L.).

Los portadores comprobados por extracción del carbohidrato como pertenecientes al Grupo A, se les administra tratamiento por vía oral con Eritromicina durante el lapso de ocho días. Finalizado el tratamiento se les tomaba un exudado faríngeo de control para comprobar la erradicación de los Streptococos del Grupo A de la orofaringe.

RESULTADOS:

De las 572 muestras estudiadas en la población adulta, 169 (29.5%) corresponden al sexo masculino y 403 (70.4%) al sexo femenino, con edades comprendidas entre 19 a 50 años (Tabla N° 1).

De las 100 muestras pertenecientes a la población escolar, el 57% pertenece al sexo masculino y el 43% al sexo femenino. En la tabla N° 2 se puede observar la distribución por sexo y edades de esa población escolar.

La Tabla N° 3 expresa la distribución de la población adulta en los diferentes Departamentos Hospitalarios, se observa que un porcentaje mayor corresponde al Departamento de Enfermería con un 43.8% de la población, le siguen en orden de secuencia Dietética con 19.%, Laboratorio con 14.3%, personal médico con 13.9% y personal obrero y administrativo con 8.2%.

De los 572 exudados faríngeos procesados en la población adulta, 73 o sea, el 12.7% mostraron en los medios de cultivos colonias pequeñas, circulares, translúcidas, rodeadas de una zona de hemólisis beta en su alrededor, estas características se corresponden con las descritas por los *Streptococos pyogenes*. De ellos, 25 (4.3%) mostraron zonas de inhibición de 9 a 15 mm. alrededor del taxo y en base a esto fueron identificadas presuntivamente como pertenecientes al Grupo A, esto puede apreciarse en la Tabla N° 4.

Los estudios serológicos que les fueron practicados a estas 25 cepas para su confirmación definitiva como pertenecientes al Grupo A, demostró que solamente 13 de estas (2.2%) pertenecían realmente a este grupo. Las 12 restantes (2.1%) resultaron negativas por pertenecer al Grupo G de la clasificación de Lancenfiel.

El porcentaje de falsos positivos en esta población adulta fue de 2.1%. La Tabla N° 5 presenta estos resultados. Las 48 cepas de colonias beta hemolíticas que no dieron positividad con el taxo de Bacitracina fueron también estudiadas por serología para la determinación de su grupo serológico. No se observó dentro de ellas ninguna que diera negativa con el taxo y positiva por la prueba de precipitación en tubos capilares para el Grupo A.

La Tabla N° 6 expresa la distribución y porcentaje de los diferentes grupos serológicos encontrados en las 73 cepas beta hemolíticas pertenecientes a la población adulta. El porcentaje mayor corresponde al Grupo G con el 9.7%, le siguen el A con 2.2%, C con 0.5% y el B con 0.1%. No se aislaron cepas pertenecientes al Grupo D.

La Tabla N° 7 muestra la distribución de portadores sanos del Grupo A en la población adulta estudiada. Se puede observar

que al personal de enfermería corresponde el mayor número de portadores 0.9%, le siguen auxiliares de enfermería 0.5%, médicos 0.3%, auxiliares de laboratorio 0.3% y asistentes de cocina 0.1%.

La Distribución de los grupos serológicos hallados en las diferentes dependencias hospitalarias está resumido en la Tabla N° 8.

Los títulos de antiestreptolisina que les fueron determinados a los 25 miembros del personal hospitalario cuyo aislamiento dieron positiva la prueba con el taxo de Bacitracina, estuvieron comprendidos entre 50 y 150 Unidades Todd, solo en dos casos se encontraron títulos significativos pertenecientes a un enfermero de Cuidados Intensivos quien presentó títulos de 1/500 y otro, un ayudante de cocina con títulos de 1/833. Ninguna de estas dos personas recordaba haber padecido infecciones clínicas que presumiblemente hubiesen sido producidas por Streptococos del Grupo A en los últimos meses. A estos pacientes nuevamente se les determinó a los 10 días la antiestreptolisina O para verificar alguna modificación no encontrándose variación en los títulos, permaneciendo estos iguales.

La prueba de susceptibilidad a los agentes antimicrobianos practicado a las 13 cepas, mostró sensibilidad a los tres antibióticos estudiados.

Los resultados obtenidos en los dos medios de cultivo utilizados en la población adulta están representados en la Tabla N° 9. 73 muestras de exudado faringeo presentaron colonias características del Género Streptococo, con una zona amplia de hemólisis a su alrededor, en el medio de A.S.C.A.N., y 70 (95.8%) que presentaron esas mismas características solo fueron aisladas en el medio de A.S.C., lo que nos demuestra que un 4.2% de los Streptococos beta hemolíticos se hubieran reportados como negativos de no haberse incluido la placa de A.S.C.A.N. Las tres muestras que solo fueron aisladas en el medio de A.S.C.A.N. y no en el A.S.C., presentaban un crecimiento escaso en cuanto al número de colonias el cual estuvo comprendido entre 5 a 10 pudiéndose notar que el crecimiento de la flora normal era abundante, estando representado principalmente por Streptococos viridans y Neisseria catarralis.

La doble zona de hemólisis no fue observada en nuestras cepas.

Las 30 muestras que fueron tomadas por duplicado, no mostraron diferencias significativas en cuanto al número y presencia de Streptococos beta hemolítico.

Los exudados de control tomados después de 10 días de haberse realizado el tratamiento oral con Eritromicina a los portadores positivos fueron todos negativos para Streptococos del Grupo A.

No fueron aislados Streptococos pertenecientes al Grupo A, de las colonias estudiadas que no presentaban hemólisis beta.

De las 100 muestras procesadas correspondientes a la población escolar, el 52% de ellas presentaron colonias beta hemolíticas con las características del Género Streptococo (Tabla N° 10).

La investigación presuntiva con el taxo de Bacitracina fue positivo para 16 de las muestras (16%), pero solamente 12 (12%) dieron positivas al practicárseles el estudio serológico para la confirmación del Grupo A y las cuatro pertenecieron al Grupo G. El porcentaje de falsos positivos en esta población escolar fué superior a la de los adultos (2.1%), ya que correspondió a un 4% (Tabla N° 11).

La Tabla N° 12 muestra la distribución de los diferentes grupos serológicos encontrados en la población escolar. El porcentaje mayor de portadores sanos fue observado dentro de los grupos etarios comprendidos de 11 a 13 años.

El halo de inhibición presente alrededor del taxo fue de 13 a 20 mm. notándose una inhibición mayor que en las cepas aisladas de la población adulta. Las cuatro cepas que dieron reacciones falsas positivas con el taxo de Bacitracina, mostraron una inhibición de 13 a 17 mm.

El resultado del crecimiento bacteriano observado en los tres medios de cultivo que se utilizaron en el estudio de esta población escolar fue el siguiente: de los 52 exudados faringeos que presentaron colonias beta hemolíticas, 49 (94.2%) fueron aisladas en las placas de A.S.C.; 50 (96.1%) en A.S.C.A.N. y 52 (100%) de las placas A.S.C.C.V. (Tabla N° 13).

De las 12 cepas pertenecientes al Grupo A, 10 fueron aisladas de los tres medios y dos no fueron aisladas en A.S.C. y en A.S.C.A.N.

La apariencia de las colonias en los medios de A.S.C. y A.S.C.A.N., son semejantes, pero en A.S.C.C.V. a las 48 a 72 horas se observan de un color ligeramente morado debido al Cristal Violeta que contiene el medio.

La hemólisis fue observada con mayor nitidez en las placas de A.S.C.C.V., igualmente la inhibición de la flora asociada fué más evidente en estas placas.

El crecimiento observado de Streptococo beta hemolítico tanto en los portadores del Grupo A como en los pertenecientes a otros grupos serológicos fué por lo general abundante. Con relación a los portadores del Grupo A, solo en tres de los cultivos el crecimiento fue escaso y estuvo comprendido entre 7 a 13 colonias. Las fotografías 1, 2 y 3 muestran el crecimiento observado en los tres medios de cultivo utilizados en el estudio de la población escolar.

A pesar de los esfuerzos realizados, no se pudo administrar en esta población una terapia ni un control adecuado a los portadores sanos por negativa del personal estudiado, de igual manera solo se les pudo determinar los títulos de antiestreptolisina a 5 de ellos, cuyos valores estuvieron comprendidos entre 50 y 100 UT.

Los test de susceptibilidad practicado para los tres antibióticos: Penicilina G, Eritromicina y Lincomicina, no mostró resistencia a ninguno de ellos.

TABLA N° 1
POBLACION ADULTA
DISTRIBUCION POR SEXO

FEMENINO	403 (70.4%)
MASCULINO	169 (29.5%)
TOTAL:	572

TABLA N° 2
POBLACION ESCOLAR
DISTRIBUCION POR SEXO Y GRUPOS ETARIOS

GRUPOS ETARIOS	MASCULINO	FEMENINO	TOTAL
6 a 8	7	4	11
9 a 11	17	13	30
12 a 14	27	22	49
15 a 17	6	4	10
TOTAL:	57	43	100

TABLA N° 3
POBLACION ADULTA
DISTRIBUCION POR DEPARTAMENTOS

ENFERMERIA	251 (43.8%)
COCINA	112 (19.6)
LABORATORIO	82 (14.3%)
MEDICO	80 (13.9%)
OBRERO	47 (8.2%)
TOTAL:	572

TABLA N° 4

**STREPTOCOCOS BETA HEMOLITICOS AISLADOS
EN LA POBLACION ADULTA**

TOTAL DE EXUDADOS FARINGEOS	572
STREPTOCOCOS BERA HEMOLITICOS	73 (12.7%)
NEGATIVOS CON EL TAXO	48 (8.4%)
POSITIVOS CON TAXO DE BACITRACINA	25 (4.3%)

TABLA N° 5

POBLACION ADULTA

**RESULTADO DEL ESTUDIO SEROLOGICO PRACTICADO
A LAS 25 CEPAS DE STREPTOCOCOS BETA HEMOLI-
TICOS POSITIVAS A LA PRUEBA PRESUNTIVA DE
LA BACITRACINA**

POSITIVOS CON LA PRUEBA PRESUNTIVA DEL TAXO	25 (4.3%)
POSITIVOS POR METODOS SEROLOGICOS PARA EL GRUPO "A"	13 (2.2%)
NEGATIVOS POR METODO SEROLOGICO PARA EL GRUPO "A"	12 (2.1%)
TOTAL DE FALSOS POSITIVOS CON TAXO DE BACITRACINA	12 (2.1%)

TABLA N° 6

**DISTRIBUCION DE LOS DIFERENTES GRUPOS
SEROLOGICOS DE STREPTOCOCOS BETA HEMOLITICOS
ENCONTRADOS EN POBLACION ADULTA**

GRUPO	A	%	B	%	C	%	D	%	G	%
	13	(2.2)	1	(0.1)	3	(0.5)	0	0	56	(9.7)

TABLA N° 7

POBLACION ADULTA

**DISTRIBUCION DE PORTADORES SANOS DE
STREPTOCOCOS DEL GRUPO A**

ENFERMERAS	5 (0.9%)
AUXILIARES DE ENFERMERIA	3 (0.6%)
AUXILIARES DE LABORATORIO	2 (0.3%)
MEDICOS	2 (0.3%)
ASISTENTES DE COCINA	1 (0.1%)
TOTAL	13 (2.2%)

TABLA N° 8

**DISTRIBUCION DE LOS DIFERENTES GRUPOS
SEROLOGICOS EN LAS DEPENDENCIAS HOSPITALARIAS**

GRUPOS	A	B	C	D	G	SUB TOTAL
CIRUGIA	2	0	1	0	2	5
TRAUMATOLOGIA	2	0	0	0	2	4
ONCOLOGIA	1	0	0	0	2	3
CUIDADOS INTENSIVOS	1	0	0	0	2	3
LABORATORIO	2	1	0	0	4	7
MEDICINA INTERNA	1	0		0	8	9
PEDIATRIA	1	0	1	0	5	7
QUIROFANO	1	0	1	0	6	8
MATERNIDAD	1	0	0	0	6	7
RETEN	0	0	0	0	5	5
COCINA	1	0	0	0	14	15
TOTAL	13 (2.2%)	1 (0.1%)	3 (0.5%)	0	56 (9.7%)	73 (12.5%)

TABLA N° 9

ESTUDIO COMPARATIVO DE LOS MEDIOS AGAR SANGRE DE CARNERO Y AGAR SANGRE DE CARNERO CON ACIDO NALIDIXICO EMPLEADOS EN EL AISLAMIENTO DE STREPTOCOCOS BETA HEMOLITICOS DEL GRUPO "A" EN LA POBLACION ADULTA.

MEDIOS DE CULTIVO	CEPAS AISLADAS	POR-CENTAJE
A.S.C.A.N.	73	100%
A.S.C.	70	95.8%

TABLA N° 10

POBLACION ESCOLAR

AISLAMIENTO DEL STREPTOCOCO BETA HEMOLITICO

TOTAL DE EXUDADOS FARINGEOS	100
NUMERO DE CULTIVOS POSITIVOS PARA STREPTOCOCOS BETA HEMOLITICOS	52%
NUMERO DE CULTIVOS NEGATIVOS PARA STREPTOCOCOS BETA HEMOLITICOS	48%

TABLA N° 11

**INVESTIGACION DEL GRUPO A POR MEDIO DEL TAXO
DE BACITRACINA Y SEROLOGIA DE LAS CEPAS DE
STREPTOCOCOS BETA HEMOLITICOS
POBLACION ESCOLAR**

POSITIVOS CON TAXO DE BACITRACINA	16%
POSITIVOS POR SEROLOGIA PARA EL GRUPO A	12%
FALSOS POSITIVOS CON EL TAXO DE BACITRACINA	4%

TABLA N° 12

**DISTRIBUCION DE LOS DIFERENTES GRUPOS
SEROLOGICOS EN LA POBLACION ESCOLAR**

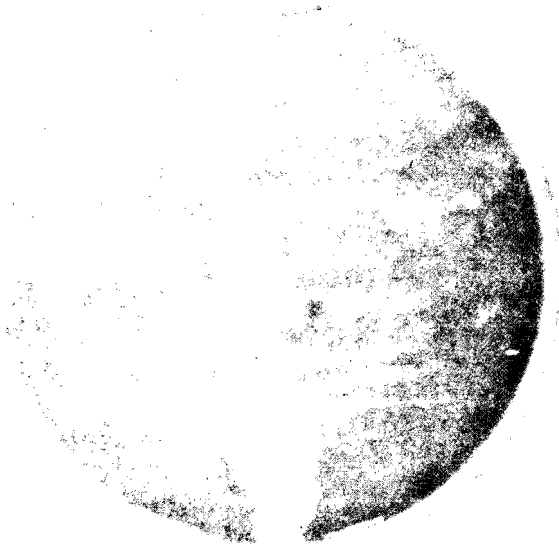
GRUPOS	NUMERO	PORCENTAJE
A	12	12%
B	1	1%
C	2	2%
D	0	0
G	37	37%

TABLA N° 13

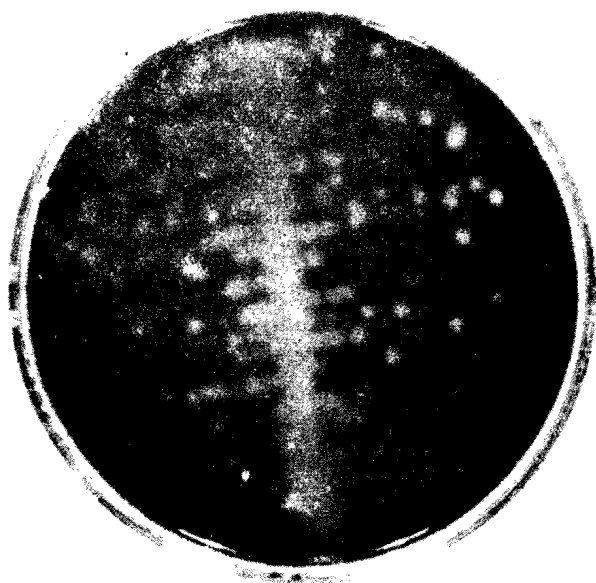
AISLAMIENTO DE LOS STREPTOCOCOS BETA HEMOLITICOS OBTENIDOS DE LOS DIFERENTES MEDIOS DE CULTIVOS POBLACION ESCOLAR

POBLACION ESCOLAR

MEDIO	N° CEPAS AISLADAS	PORCENTAJE
A.S.C.C.V.	52	100%
A.S.C.A.N.	50	96.1%
A.S.C.	49	94.2%



FOTOGRAFIA N° 1: Muestra el crecimiento de St. Beta Hemolítico en el medio de Agar Sangre de Carnero.



FOTOGRAFIA N° 2: Muestra el crecimiento de St. Beta Hemolítico en el medio de Agar Sangre de Carnero con Acido Nalidixico.



FOTOGRAFIA N° 3: Muestra el crecimiento de St. Beta Hemolítico en el medio de Agar Sangre de Carnero con Cristal Violeta.

DISCUSION:

En la presente investigación para determinar el porcentaje de portadores sanos de Streptococos beta hemolíticos del Grupo A, se ha podido comprobar que las cifras de esos portadores en la población adulta, son mas bajos que los hallados en la población escolar, ya que solo un 2.2% de esa población portaba en la orofaringe Streptococos del Grupo A, en tanto que en la escolar la cifra se elevó a un 12%.

En estudios epidemiológicos realizados en poblaciones escolares, Cornfeld y col. ^{55,56}, dan como cifras de portadores asintomáticos de Streptococos del Grupo A en la ciudad de Filadelfia

el 10.1%. Channing y col. ⁵⁷ encontraron en niños escolares de Bismarck el 16.6% de cultivos positivos para Streptococos del Grupo A. Quin y col. ⁵⁸ en Nasville, Tenesse, encuentran cifras promedios de 11.1%. Pike y col. ⁵⁹ en Dallas, Saslaw y col. ⁶⁰ en Miami reportan cifras de portadores escolares semejantes a la de los autores antes citados.

Tomando como base que la realización de este estudio fue seleccionado un personal calificado como sano, al que no se le tomaban muestras de exudados faríngeos, si acusaban sintomatología que hiciera pensar en el Streptococo del Grupo A como causante de infecciones en los tres meses anteriores a la toma del exudado, parámetro éste, que no fue comunicado en los estudios realizados por los autores antes citados, y al hecho también de que en nuestra región no existen variaciones climatológicas que puedan influir en los resultados obtenidos, como han sido comunicados por algunos investigadores ^{56,58,61} por ser el clima en esta ciudad cálido durante los doce meses del año, es obvio que el porcentaje de portadores sanos para Streptococos del Grupo A en la población escolar, sea considerado como significativo por las razones antes expuestas.

Con respecto a los resultados falsos positivos obtenidos con la prueba presuntiva de la Bacitracina, ellos guardan relación con los porcentajes establecidos por otros investigadores ^{49,62,63}. Estas cifras fueron: para la población adulta 2.1% y en la escolar se presenta un poco mas elevada correspondiendo a un 4%.

Tanto en la población adulta como en la escolar, las cepas que dieron resultados falsos positivos con el test de Bacitracina, pertenecieron todas al Grupo G y el halo de inhibición alrededor del taxo, estaba comprendido entre 10 a 17 mm. lo que demuestra que el tamaño del halo de inhibición no puede ser tomado como parámetro para establecer cuando un Streptococo beta hemolítico pertenezca al Grupo A o a otros grupos serológicos.

Con relación al porcentaje de los otros grupos serológicos investigados, el Grupo G fue aislado en el 37% de la población escolar, cifra que no concuerda con las reportadas por muchos investigadores ^{8,55,56,58}, quienes conceden a ese grupo un porcentaje menor. En cuanto a los grupos B y C se consigue correlación con los establecidos por otros autores ^{55,56,58,64}.

Con el test de susceptibilidad a los agentes antimicrobianos, se pudo comprobar que las 25 cepas pertenecientes al Grupo A, no mostraron resistencia a los antibióticos probados, no aislándose por lo tanto cepas que fueran resistentes a algunos de esos antibióticos como ha sido comunicado por Dixon ⁶⁵ y Sanders ⁶⁶.

La evaluación de los tres medios de cultivo mostró que el A.S.C.C.V. es un medio selectivo que aumenta al porcentaje de aislamiento de los Streptococos beta hemolíticos. A pesar de que el análisis estadístico de los datos, aplicando Chi cuadrado (X^2) dió un valor de P no significativo (mayor de 0.05), se observó un aumento real y absoluto del número de cepas aisladas en el medio de A.S.C.C.V. por lo cual es recomendable emplear en la rutina del Laboratorio este medio de cultivo cuando se deseen aislar Streptococos del Grupo A, y especialmente en muestras de exudados faríngeos.

El medio de A.S.C.A.N. dio también buenos resultados para el aislamiento de los Streptococos, pero en ningún momento fue superior al de A.S.C.C.V.

El empeño realizado en seguir la misma técnica durante la toma de la muestra y la siembra de ésta en los cultivos, tal vez fue la causa de que no se observaran diferencias significativas en los exudados que fueron tomados por duplicado.

Es interesante destacar, que el número de colonias presentes en la mayoría de las placas que dieron positivas para el Grupo A, fueron bastantes numerosas (mas de 50), desvirtuando el hecho de que en los portadores sanos de Streptococos beta hemolíticos del Grupo A, el número de las colonias es muy escaso.

Considerando como significativo el número de portadores sanos de Streptococos del Grupo A en nuestra población escolar, conociendo el peligro que las infecciones causadas por estos microorganismos pueden ocasionar a esta joven población, y conocidas también las epidemias de glomerulonefritis y los casos de fiebre reumática reportadas en nuestro medio, se hace imperiosa la necesidad de tomar ciertas medidas tendientes a erradicar los Streptococos del Grupo A de la garganta de los por-

tadores para romper la cadena del contagio a personas susceptibles y contribuir de esta manera con el saneamiento de la Comunidad.

La medida propuesta en este estudio, es de fácil ejecución, efectiva y poco costosa por los beneficios que representa, factible de ser realizada en nuestro medio, la cual consiste en la exigencia obligatoria del Certificado de Salud, no solamente para los que van a ingresar a Institutos de Educación Superior, sino también para los de Educación Media y Escolar, e incluir dentro de los exámenes solicitados para expedir dicho certificado, la toma de un exudado faringeo para investigar la presencia de Streptococos beta hemolíticos del Grupo A. Este exudado sería sembrado en una placa de A.S.C.C.V. a la que a su vez se le colocaría un taxo de Bacitracina y se incubaría de inmediato en anaerobiosis. El personal que resulte positivo, debe ser tratado y controlado e igualmente a sus contactos familiares. Esta medida debe ser aplicada principalmente a los niños de edad escolar por ser ellos los mas afectados por las secuelas de las enfermedades post-streptocóccicas.

Con medidas tan simples como estas, con seguridad se obtendrán resultados que disminuirán notablemente los casos de infecciones por Streptococos del Grupo A causantes de un porcentaje elevado de faringitis, cuyas secuelas principales son la fiebre reumática y la glomerulonefritis aguda, enfermedades que podrían conllevar a la incapacidad física de algunos de nuestros niños, baluartes futuros del país, quienes nos reclamarían posteriormente el no haber tomado medidas para prevenir estas afecciones que en la actualidad son fáciles de ser prevenidas.

RESUMEN:

Se estudiaron 672 muestras de exudados faringeos pertenecientes a personas sanas de una comunidad hospitalaria y a niños en edad escolar, a fin de determinar la presencia de Streptococos beta hemolíticos del Grupo A.

Se observa que en la población adulta la tasa de portadores sanos es de 2.2%, y en la escolar de 12%. Se considera significativo el porcentaje de portadores escolares por las condiciones

climatológicas de la región estudiada y por las normas establecidas como requisito previo para la toma de la muestra del exudado.

Se determina el porcentaje de resultados falsos positivos empleando la técnica del taxo de Bacitracina el cual tenía una concentración de 0.02 U., consiguiéndose cifras de 2.1% para la población adulta y 4% para la escolar.

Se comparan dos medios de cultivo selectivos: Agar Sangre de Carnero con Acido Nalidíxico (A.S.C.A.N.) y Agar Sangre de Carnero con Cristal Violeta (A.S.C.C.V.) al 1:500.000 y también el Agar Sangre de Carnero (A.S.C.) para determinar un aislamiento mas favorable de los Streptococos del Grupo A, observándose que en el Agar Sangre de Carnero con Cristal Violeta (A.S.C.C.V.) se obtienen los mejores resultados.

El estudio serológico efectuado a los Streptococos beta hemolíticos aislados nos demuestra que el porcentaje mayor corresponde al Grupo G, siendo estos porcentajes de 9.7% para la población adulta y 37% para la escolar.

Con el test de susceptibilidad a los agentes antimicrobianos se demuestra que las cepas de Streptococos del Grupo A estudiadas no mostraron resistencia a Penicilina, Lincomicina y Eritromicina. Igualmente se demuestra que la Eritromicina fue eficaz para el tratamiento de los portadores sanos.

Se considera la importancia del portador sano en la transmisión de las enfermedades Streptocócicas y se hacen recomendaciones tendientes a disminuir la tasa de portadores de Streptococos del Grupo A en la comunidad.

REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS:

1. Duma, R.J., Weimberg, A.N. Medrek, T.F., Kunz, L.J., "Streptococcal Infections. A Bacteriologic and Clinical Study of Streptococcal Bacteremia". *Medicine*. 48 (Nº 2): 87-127, March 1969.
2. Krugman, S. y Ward, R. "Infecciones Streptocócicas, incluida la escarlatina". En su: *Enfermedades Infecciosas*, 5ta. ed. Interamericana, p: 282-292, 1973.

3. Bastin, R., Morin, M., Frottier, J., Vilde, J.J. "Los Estreptococos y la Patología Streptococcica". En su: *Enfermedades Infecciosas y Parasitarias*. Barcelona-Espaxs, p: 41-57, 1973.
4. Burton, A., Dillon, H.C., Wannamaker, L.W., Kilton, R.M., Chapman, S.S., Anthony, B.F. "Post-epidemic Surveillances Studies of a Food-Borne. Epidemic of Streptococcal Pharyngitis at the United States Air Force Academy". *J. Infect. Dis.* 120: 225-236, 1969.
5. Hill, H.R., Zimmerman, R.A., Reid, C.V., Wilson, E., Kilton, R.M. "Food-Borne Epidemic Epidemic of Streptococcal Pharyngitis at the United States Air Force Academy". *N. Eng. J. of Med.* 280: 917-922, 1969.
6. Geil, C.C., Castle, W.K., Mortimer, E.A. "Group A Streptococcal Infections in New Born". *Nurseries* 46: 849-854, 1970.
7. Hagan, A.D., Goffinet, J., Davies, J.M., "Acutes Streptococcal Thyroiditis". *J.A.M.A.* 202: 282-283, 1967.
8. Valkenburg, H.A., Goslings, W.R.O., Bots, A.W., Moor, C.E. Lorrier, J.C., "Attack Rate of Streptococcal Pharyngitis, Rheumatic Fever and Glomerulonephritis in General Population". *N. Eng. J. of Med.* 268: 694-701, 1963.
9. *Microbiología de Zinsser*, 3ra. ed. en Español, Mexico Unión Gráfica, S.A. "Enfermedades producidas por Streptococos". pág. 502-512, 1967.
10. Gordis, L., Markowitz, M., Lilienfeld, A.M. "Studies in the Epimiology and Preventability of Rheumatic Fever. IV. A Quantitative Determination of Complicance in Children on oral Penicillin Prophylaxis". *Pediatrics*. 43: 173-182, 1969.
11. Ferrieri, P., Dajani, A.S. Wannamaker, L.W. "A Controlled Study of Penicillin Prophylaxis Against Streptococcal Impetigo". *J. Infec. Dis.* 129: 429-438, 1974.
12. Bergner, R.S., Davies, M. "Sensitivity of Streptococcus Pyogenes Types to Tetracycline and other Antibiotics". *Israel. J. Med. Sci.* 6: 393-398, 1970.
13. Eickhoff, T., Finland, M., Wilcox, C. "In Vitro Susceptibility of Group A Beta Hemolytic Streptococci to 18 Antibiotics". *Amer. J. Med. Sci.* 249: 261-269, 1965.
14. Morris, A.J., Rammerlka, C.H. "Benzathine Penicillin G in the Prevention of Streptococci Infections". *J.A.M.A.* 165: 664-667, 1957.
15. Matsen, J.M., Coghlan, C.R. "Antibiotic Testing and Susceptibility Patterns of Streptococci". Wannamaker and Matsen. *Streptococci and Streptococcal Diseases*. Academic Press, N. York, pág. 189-204, 1972.
16. Bland, E.F., Jones, T.D. "The Natural History of Rheumatic Fever: a 20 Years Perspective". *Ann. of Inter. Med.* 37: 1006-1026, 1952.
17. Hourse, H.B., Eckhardt, G.C. "Recent Developments in the Prevention of Rheumatic Fever". *Ann. of Inter. Med.* 37: 1035-1043, 1952.
18. Spagnuolo, M., Pasternack, B., Taranta, A. "Risk of Rheumatic-Fever Recurrences After Streptococcal Infections". *N. Eng. J. Med.* 285: 641-647, 1971.

19. Dixon, F.J. "The Pathogenesis of Glomerulonephritis". *Amer. J. Med.* 44: 493-498, 1968.
20. Kaplan, E.L., Anthony, B.F., Chapman, S.S., Wannamaker, L.W. "Epidemic Acute Glomerulonephritis Associated with Type 49 Streptococcal Pyoderma. I. Clinical and Laboratory Findings". *Amer. J. Me.* 48: 9-27, 1970.
21. Fish, A.J., Herdman, R.C., Michael, A.F., Pickering, R.J., Good, R.A. "Epidemic Acute Glomerulonephritis Associated with Type 49 Streptococcal Pyoderma. II Correlative Study of Light, Immunofluorescent and Electron Microscopic Findings". *Amer. J. Med.* 48: 28-39, 1970.
22. Dodge, W.F., Spargo, B.H., Travis, L.B., Srivastava, R.N., Carvajal, H.F., De Beukelaer, M.M., Longley, M.P., Menchanca, J.A. "Post-Streptococcal Glomerulonephritis". *New Eng. J. Med.* 286: 273-278, 1972.
23. Ayoub, E.M., "Gross Reacting Antibodies in the Pathogenesis of Rheumatic Myocardial and Valvular Diseases". Wannamaker and Matsen. *Streptococci and Streptococcal Diseases*. Academic Press, N. York, p: 451-464, 1972.
24. Praxis Médica. "Enfermedades Infecciosas y Parasitarias". Tomo VI. Complicaciones tardías en las Estreptococcias. p: 6126-1
25. Burrows, W. Fiebre Reumática. En su tratado de Microbiología, 19 ed. p: 440-441, 1969.
26. James, L., Mc Farland, R.B. "An Epidemic of Pharyngitis Due to A Nonhemolytic Group A Streptococcus at Lowry Air Force Base". *New. Eng. J. Med.* 284: 750-752, 1971.
27. Mc Carty, Am. "The Hemolytic Streptococci. Bacterial and Mycotic Infections of Man. 4ta. ed. 356-390, 1965.
28. García, O.F., Bucobo, D.R., Pérez, E. "Incidencia de Fiebre Reumática y Cardiopatía Reumática en el Hospital Universitario de Maracaibo". *Memorias del VIII Congreso Venezolano de Ciencias Médicas*, Vol. 1, p: 555-583, 1971.
29. Thomas, L. "Experimental Models for the Pathogenesis of Rheumatic Heart Disease". Wannamaker and Matsen. *Streptococci and Streptococcal Diseases*. Academic. Press, N. York, 465-471, 1972.
30. Kaplan, M.H., Meveserian, M. "An Immunological Cross-Reaction Between Group A Streptococcal Cells and Human Heart Tissue". *Lancet*, 706, 1962.
31. Kaplan, M.H. "Immunologic Relation of Streptococcal and Tissue Antigens I. Properties of Anantigen in Certain of Group A. Streptocococci Exhibiting and Immunologic Cross Reaction with Human Heart Tissue". *J. Immunol.* 90: 595-600, 1963.
32. Zabriskie, J.B. and Freimer, E.H. "An Immunological Relationship Between the Group A Streptococcus and Mammalian Muscle". *J. Exp. Med.* 124: 661-678, 1966.
33. Goldstein, I., Halpern, B., Robert, K. "Immunological Relationship Between Streptococcus A Polysaccharid and the Structural Glycoproteins of Heart Valve". *Nature.* 213: 44-47, 1967.

34. Morbidity and Mortality. Center for Disease Control. 24: 2-4, Annal Supplement, 1975.
35. Boscan de H.L. "Algunos Aspectos Epidemiológicos y Clínicas de la Fiebre Reumática en el Estado Zulia". Trabajo presentado en la Academia de Medicina del Estado Zulia, 1968.
36. Potter, E.V., Siegel, A.C., Simon, N.M., McAninch, J., Earle, E.P. "Streptococcal Infections and Epidemic Acute Glomerulonephritis in Saouth Trinidad". *J. Pediatrics*. 72: 871-884, 1968.
37. Bisno, A.L., Nelson, K.E., Waytz, P., Brunt, J. "Factors Influencing Serum Antibody Responses in Streptococcal Pyoderma". *J. Lab. Clin. Med.* 81: 410-420, 1973.
38. Dillon, H.C. "Streptococcal Infections of the Skin and their Complications. Impetigo and Nephritis". Wannamaker and Matsen. Streptococci and Streptococcal Diseases. Academic Press, N. York, 571-587, 1972.
39. Potter, E.V., Ortiz, J.S., Sharrette, R., Burt, E.G., Bray, J.P., Finkfla, J., Poon-King, T., Farle, D.P., "Changing Types of Nephritogenic Streptococci in Trinidad". *J. Clin. Invest.* 50: 1197-1205, 1971.
40. Jawetz, E., Melnick, J.L., Adalberg, F.S. "Los Estreptococos". En su Manual de Microbiología, 5a. ed. Español, 193-200, 1973.
41. Divo, A. "Genero Streptococcus: Streptococcus pyogenes. Infecciones de Origen Estreptococcico". En su Microbiología Médica. 2da. Ed. 127-133, 1971.
42. Dixon, F.J., Feldman, J.D., Vásquez, J.J. "Experimental Glomerulonephritis". *J. Exp. Med.* 113: 899-919, 1961.
43. Becker, C.G., Murphy, G.E. "The Experimental Induction of Glomerulonephritis Like that in Man by Infection with Group A Streptococci". *J. Exp. Med.* 127: 1-23, 1968.
44. Ginsburg, I. "Mechanisms of Cell and Tissue Injury Induced by Group A. Streptococci: Relation to Post-Streptococcal Sequelae". *J. Infect. Dis* 126: 294-328, 1972.
45. Michael, A.F., Hoyer, J.R., Westberg, N.G., Fish, A.J. "Experimental Models for the Pathogenesis of Acute Post-Streptococcal Glomerulonephritis". Wannamaker and Matsen. Streptococci and Streptococcal Diseases. Academic Press. 481-500, N. York, 1972.
46. Rodríguez, I.B., García, R.R. "Acute Glomerulonephritis A Clinical Study of 470 Cases". Memoris of the IV International Congress of Nefrology. Stokholm, 144, 1969.
47. Rubio, L., Rodríguez, I.B., Moros, J.G., García, R. "Glomerulonefritis como Problema Endémico en Maracaibo", Abstracto del I Congreso Latinoamericano de Nefrología, México, D.F., 21, 1972.
48. Beerens, H., Tahon-Castel, M.M. "Milieu A L'Acide Nalidixique Pour L'isolement des Streptocoques, D. Pneumoniae, Listeria, Erysipelothrix". *An. n. Inst. Pasteur.* 111: 90-93, 1966.

49. Schaub, I.G., Mazeika, I., Lee, R., Dunn, M.T., Lachaine, R., Price, W.H. "Ecologic Studies of Rheumatic Fever and Rheumatic Heart Disease". *Amer. J. Hyg.* 67: 46-56, 1958.
50. Moody, M.D., "Old and New Techniques for Rapid Identifications of Group A Streptococci". Wannamaker and Matsen. *Streptococci and Streptococcal Diseases*. Academic Press, N. York, p: 177-188, 1972.
51. Bernheimer, A.W. "Hemolysin of Streptococci: Characterization and Effects on Biological Membranes". Wannamaker and Matsen. *Streptococci and Streptococcal Diseases*. Academic Press, N. York, 19-31, 1972.
52. Noble, R.C., Vosti, K.L. "Production of Double Zones of Hemolysis by Certain Strains of Hemolytic Streptococci of Group A, B, C and G on Heart Infusion Agar". *App. Microb.* 22: 171-176, 1971.
53. Rantz, L.A. and Randall "Use of Autoclaved Extracts of Hemolytic Streptococci for Serological Grouping". *Stanford Med. Bull.* 13: 290-291, 1955.
54. Bauer, A.W. "Current Status of Antibiotic Susceptibility Testing with Single High Patency Disk". *Am. J. Med. Technol.* 32: 97-102, 1966.
55. Cornfeld, D., Hubbard, J.B. "A Four-Years Study of the Occurrence of Beta-Hemolytic Streptococci in 64 School Children". *New. Eng. J. Med.* 264: 211-216, 1966.
56. Cornfeld, D., Warners, G., Weaver, R., Bellows, M.T., Hubbard, J.P. "Streptococcal Infection in A School Population: Preliminary Report". *Ann. Int. Med.* 49: 1305-1319, 1958.
57. Channing, N., Patton, S.C. "Occurrence of Groupable Beta-Hemolytic Streptococci". *J.A.M.A.* 181: 113-121, 1962.
58. Quinn, R.W., Denny, F.W., Riley, H.D. "Natural Occurrence of Hemolytic Streptococci in Normal School Children". *Am. J. Public. Health.* 47: 995-1008, 1957.
59. Pike, R.M., and Fasheria, G.J. "Frequency of Hemolytic Streptococci in Throats of Well Children in Daallas". *Am. J. Dis. Child.* 92: 550-557, 1956 (según Cornfeld en referencia N° 55).
60. Saslaw, M.S. and Streitfield, M.M. "Group A Beta Hemolytic Streptococci and Rheumatic Fever in Miami Florida". *Pub. Health.* 69: 877, 1954 (Según Quinn en referencia N° 58).
61. El Kholy, A., Sorour, A.H., Houser, H.B., Wannamaker, L.W., Robis, M., Poitras, J.M., Krause, R.M. "A Three-Year Prospective Study of Streptococcal Infections in A Population of Rural Egyptian School Children". *J. Med. Microbiol.* 6: 101-109, 1973.
62. Petran, E.I. "Comparison of the Fluorescent Antibody and the Bacitracin Disk Methods for the Identification of Group A Streptococci". *Am. J. Clin. Pathol.* 41: 224-226, 1964.
63. Levinson, M.L., Frank, P.F. "Diferentiation of Group A from other Beta Hemolytic Streptococci with Bacitracin". *J. Bact.* 69: 284-288, 1955.
64. Kaplan, E.L., Top. F.H., Dudding, B.A., Wannamaker, L.W. "Diagnosis of Streptococcal Pharyngitis: Diferentiation of Active Infections from the Carrier State in the Symptomatic". *Child. I. Inf. Diseases.* 123: 490-501, 1971.

65. Dixon, J.M., Lepinski, A.E. "Resistance of Group A Beta Hemolytic Streptococci to Lincomycin and Erythromycin". *Antim. Agents. Chemotherapy* 1: 333-339, 1972.
66. Sanders, E., Foster, M.T., Scott, R., "Group A Beta Hemolytic Streptococci Resistant to Erythromycin and Lincomycin". *New Eng. J. Med.* 278: 538-540, 1968.